

REC'D	1 0 AUG 1998
WIPO	PCT



Bescheinigung

PRIORITY DOCUMENT

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Die Merck Patent GmbH in Darmstadt/Deutschland hat eine
Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Halierung für monolithische Sorbentien"

am 20. Juni 1997 beim Deutschen Patentamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue
Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patent-
anmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patentamt vorläufig die Sym-
bole B 01 D und G 01 N der Internationalen Patentklassifika-
tion erhalten.

München, den 20. April 1998

Der Präsident des Deutschen Patentamts

Im Auftrag

Zeichen: 197 26 164.7

Sleck

**Merck Patent Gesellschaft
mit beschränkter Haftung
64271 Darmstadt**

Halterung für monolithische Sorbentien

Halterung für monolithisch Sorbentien

Gegenstand der Erfindung sind Halterungsvorrichtungen für monolithische Sorbentien für die Chromatographie.

5

Beim Packen von Chromatographiesäulen mit partikulären Sorbentien wird erreicht, daß das Sorbensbett am Mantel der Säule dicht anliegt. Ersetzt man, wie es in WO 94/19 687 und in WO 95/03 256 offenbart ist, partikuläre durch monolithische Sorbentien, so ergibt sich das Problem, den Mantel des Sorbens flüssigkeitsdicht, druckstabil und gegen die Elutionsmittel inert abzudichten. Nur so ist gewährleistet, daß das Elutionsmittel ausschließlich durch das Sorbens fließt. F. Svec und J.M. Frechet (1992) Anal. Chem. 64, Seiten 820 - 822, beschreiben, wie ein monolithisches Sorbens in ein Rohr einpolymerisiert werden kann. Dieses Prinzip ist bei keramischen Sorbentien nur bedingt anwendbar, da der Grünling bei den anschließenden Brenn- und Calcinierungsschritten schrumpft: Nur wenn der Innendurchmesser des Rohres hinreichend klein, d.h. deutlich unter einem Zentimeter, ist, kann dieses Verfahren angewandt werden. Eine Halterung, die auch für dickere monolithische Sorbentien angewandt werden kann, ist in WO 94/19 687 offenbart: Ein Mantel aus Teflon umhüllt den Keramikstab. Damit dieser Mantel flüssigkeitsdicht abschließt, auch wenn im Innern der Betriebsdruck der Chromatographieeinrichtung angelegt ist, befindet sich der mit Teflon ummantelte Keramikstab in einem Metallrohr mit größerem Innendurchmesser, in dem ein Gegendruck erzeugt wird.

25

Die in WO 94/19 687 offenbarte Einrichtung ist kompliziert aufgebaut. Es besteht also die Aufgabe, vereinfachte Halterungen und Ummantelungen für monolithische Sorbentien bereitzustellen.

30

Gegenstand der Erfindung sind ummantelte monolithische Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern, insbesondere solchen, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen
5 Medianwert größer als 0,1 μm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist, wobei die Mantelfläche des genannten monolithischen Sorbens flüssigkeitsdicht mit einem druckfesten Kunststoffmantel umschlossen ist.

10 Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung eines erfindungsgemäßen monolithischen Sorbens in einer chromatographischen Säule oder einer chromatographischen Kartusche.

Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung eines erfindungsgemäßen monolithischen Sorbens bei der chromatographischen Trennung
15 mindestens zweier Substanzen.

In der Abbildung 1 ist ein erfindungsgemäß ummanteltes monolithisches Sorbens in einer Halterung dargestellt; die obere Hälfte ist dargestellt. In
20 den Abbildungen 2 und 3 sind Varianten zur Halterung monolithischen Sorbentien dargestellt.

Monolithische Sorbentien sind grundsätzlich aus der Literatur bekannt; dazu gehören vor allem poröse keramische Formkörper, wie sie in WO
25 94/19 687 und in WO 95/03 256 offenbart sind. Von dem Begriff monolithische Sorbentien werden im weiteren Sinn auch Formkörper aus Polymerisaten umfaßt, wie sie von F. Svec und J.M. Frechet (1992) Anal. Chem. 64, Seiten 820 - 822, und von S. Hjerten et al. (1989) J.
30 Chromatogr. 473, Seiten 273 - 275, beschrieben wurden. Besonders

bevorzugt sind monolithische Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist.

Monolithische Sorbentien bestehen also aus Materialien, wie sie für partikuläre Sorbentien im Gebrauch sind. In vielen Fällen (z.B. SiO₂) können diese Sorbentien ohne weiteres für chromatographische Trennungen verwendet werden. Häufiger jedoch werden die Basisträger derivatisiert, um die Trenneigenschaften zu verbessern; dabei werden zusätzliche Gruppierungen eingeführt, die unter der Bezeichnung Separationseffektoren zusammengefaßt werden.

Separationseffektoren und Verfahren zu ihrer Einführung in den Basisträger sind dem Fachmann grundsätzlich bekannt. Beispiele für Reaktionen, mit denen Separationseffektoren eingeführt werden können, sind:

a) Die Derivatisierung mit Silanderivaten der Formel I



worin

X Methoxy, Ethoxy, Halogen oder Aminoderivate

R¹ C₁ - C₅ -Alkyl,

n 1, 2 oder 3

bedeuten und

R² eine der im folgenden angegebene Bedeutungen besitzt:

- a1) unsubstituiertes oder substituiertes Alkyl oder Aryl, wie z.B. n-Octadecyl, n-Octyl, Benzyl- oder Cyanopropyl;
- a2) anionische oder saure Reste, wie z.B. Carboxypropyl;
- 5 a3) kationische oder basische Reste, wie z.B. Aminopropyl, Diethylaminopropyl oder Triethylammoniumpropyl;
- a4) hydrophile Reste, wie z.B. (2,3-Dihydroxypropyl)-oxypropyl;
- a5) bindungsfähige aktivierte Reste, wie z.B. (2,3-Epoxypropyl)-oxypropyl.

10

- b) Die Adsorption oder chemische Bindung von Polymeren wie Polybutadien, Siloxanen, Polymeren auf der Grundlage von Styrol/ Divinylbenzol, von (Meth)acrylsäurederivaten oder von anderen Vinylverbindungen, sowie von Peptiden, Proteinen, Polysacchariden und Polysaccharidderivaten an dem Basisträger;

15

- c) Die chemische Bindung von unter b) genannten Polymeren über die unter a) genannten Derivate; dazu gehören Pfropfpolymerisate von Poly(meth)acrylsäurederivaten auf diolmodifiziertem Kieselgel nach EP-B-0 337 144.

20

- d) Die Adsorption oder chemische Bindung von chiralen Phasen, wie z.B. von Aminosäurederivaten, Peptiden oder Proteinen, oder von Cyclodextrinen, Polysacchariden oder Polysaccharidderivaten.

25

Weitere gebräuchliche Derivatisierungsmöglichkeiten und Derivatisierungsverfahren sind dem Fachmann bekannt und in gängigen Handbüchern wie Unger, K.K. (ed) Porous Silica, Elsevier Scientific Publishing Company (1979) oder Unger, K.K. Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques, Marcel Dekker (1990) beschrieben.

30

Weitere Beispiele für verschiedene Separationseffektoren und für Verfahren, die Separationseffektoren in monolithische Sorbentien einzuführen, sind in den folgenden Druckschriften genannt:

- 5 a) Aus DE 38 11 042 sind unter anderem Monomere bekannt, die zur Herstellung von Ionenaustauschern geeignet sind; dazu gehören beispielsweise Acrylsäure, N-(Sulfoethyl)-acrylamid, 2-Acrylamido-2-methylpropansulfonsäure, N,N-Dimethylaminoethyl-acrylamid, N,N-Diethylaminoethyl-acrylamid, sowie Trimethylammoniummethyl-acrylamid.

10

Andere in dieser Druckschrift genannte Monomere erlauben die Bindung von Affinitätsliganden oder von Enzymen, oder eignen sich für reversed phase Chromatographie: dazu gehören beispielsweise Acrylsäure, Acrylamid, Allylamin oder Acrylnitril.

15

- b) Aus DE 43 10 964 sind Monomere bekannt, die einen Oxiranring, einen Azlactonring oder eine Gruppierung enthalten, die in einen Azlactonring umgesetzt werden kann. Polymere, die derartige Monomere enthalten, sind besonders gut für die Bindung von Affinitätsliganden oder von Enzymen geeignet. Affinitätsliganden sind beispielhaft in DE 43 10 964 offenbart.

20

Weiterhin können die Epoxidgruppen in derartigen Polymeren in vorteilhafter Weise weiter umgesetzt werden, wodurch Ionenaustauscher, thiophile Sorbentien oder Sorbentien für die Metallchelat- oder die hydrophobe Chromatographie bereitgestellt werden. Dabei werden beispielsweise Phosphorsäure, Diethylamin, Trimethylamin, schweflige Säure oder auch Komplexbildner wie Iminodiessigsäure an den Oxiranring addiert.

25

30

Die Herstellung von thiophilen Sorbentien und von Sorbentien für die Metallchelatchromatographie ist in DE 43 10 964 offenbart.

5 In DE 43 33 674 und in DE 43 33 821 sind derartige Umsetzungen, mit derer Hilfe Ionenaustauscher bereitgestellt werden können, offenbart.

In DE 43 23 913 werden Sorbentien für die hydrophobe Interaktionschromatographie beschrieben.

10 Unter dem Begriff monolithisches Sorbens wird erfindungsgemäß sowohl ein poröser Grundkörper als auch ein mit Separationseffektoren derivierter poröser Grundkörper verstanden.

15 Eine vereinfachte Lösung der Aufgabe besteht darin, das monolithische Sorbens wie in WO 94/19 687 beschrieben mit Teflon, PTFE oder FEP, z.B. durch Aufschrumpfen eines dünnwandigen Schlauches, zu ummanteln. In einem zweiten Schritt wird anschließend für eine weitere druckfeste Umhüllung gesorgt. Dazu kann der mit das mit dem dünnwandigen Schlauch ummantelte monolithische Sorbens in einem Rohr mit Kunstharz, 20 z.B. einem Epoxy- oder Polyiminharz eingegossen , oder mit einem Kunststoff eingesintert werden. Auch eine zusätzliche Umhüllung mit einem Verbundwerkstoff mit einer Verstärkung aus Glas- oder Carbonfasern ist geeignet, die innere Ummantelung dicht an das monolithische Sorbens zu drücken.

25

30

Die einfachste Lösung besteht darin, eine Kunststoffummantelung, die hinreichend druckstabil und Lösungsmittelfest ist, auf das monolithische Sorbens aufzubringen. Für diese Anwendung geeignete Kunststoffe sind bekannt, so z.B. Polyetherketone wie Polyetheretherketone (PEEK). Diese Kunststoffe können als Pulver auf das das monolithische Sorbens aufgebracht werden und anschließend geschmolzen oder gesintert werden. Auch PTFE ist geeignet, aufgesintert zu werden.

Eine andere Möglichkeit, derartig ummantelte monolithische Sorbentien herzustellen, besteht darin, den Kunststoff auf den Keramikstab aufzuextrudieren. Dabei wird parallel zur Extrusion eines Schlauches durch einen Querkopf der Keramikstab zugeführt. Der frisch extrudierte Schlauch umschließt (heiß) den Keramikstab und wird z.B. durch eine Andrückvorrichtung zusätzlich an den Keramikstab angedrückt. Durch dieses mechanische Andrücken und das zusätzliche Sintern beim Abkühlen entsteht eine dichte Ummantelung. Es ist auch möglich, den Keramikstab in einen vorgefertigten Schlauch, dessen Innendurchmesser geringfügig größer ist, als der Außendurchmesser des Keramikstabes einzubringen und dann den Kunststoff zu erwärmen, so daß der Schlauch auf den Enddurchmesser abgezogen werden kann und dabei den Keramikstab dicht umschließt.

Bei einer weiteren Variante wird die Kunststoffummantelung durch Flamm-spritzen oder ein- oder mehrfaches Aufschumpfen erzeugt.

Die Poren der Mantelfläche des monolithischen Sorbens können auch durch Beschichten mit einem Harz oder eines Polysiloxans oder anderen Substanzen, die sich dicht und porenfrei verfestigen, verschlossen werden. Ebenso ist eine Beschichtung der Mantelfläche eines aus keramischem

Material bestehenden monolithischen Sorbens mit einem möglichst niedrig schmelzenden Glas möglich; dabei sollte das Glas bevorzugterweise einen ähnlichen thermischen Ausdehnungskoeffizienten aufweisen, wie das monolithische Sorbens.

5

Arbeitsverfahren und -parameter sind dem Fachmann der Kunststoffverarbeitung geläufig oder können nach üblichen Verfahren optimiert werden.

10

Grundsätzlich ist es möglich, auch die letztgenannten Varianten der Ummantelung nach einer vorherigen ersten Ummantelung mit z.B. einem Schrumpfschlauch oder ähnlichem nicht druckstabilem Material auszuführen.

15

Das druckfest ummantelte monolithische Sorbens kann mit Endstücken zum Anschluß von Elutionsmittelzu- und -ableitungen versehen werden (Chromatographiesäule mit monolithischem Sorbens). Endstücke können aufgeschraubt, aufgeklebt oder aufgeschrumpft werden.

20

Es ist auch möglich, das druckfest ummantelte monolithische Sorbens als chromatographische Kartusche für die Aufnahme in eine Kartuschenhalterung auszurüsten. Dazu kann die Ummantelung beispielsweise mit einer Ringnut versehen werden, in die entsprechende Vorsprünge der Kartuschenhalterung eingreifen. Dichtungselemente an den Enden

25

können beispielsweise eingeklebt oder eingepreßt werden.

30

Geeignete Konstruktionen für chromatographische Säulen oder Kartuschen, sowie deren Endstücken sind dem Fachmann geläufig und in der einschlägigen Literatur beschrieben; so werden beispielsweise in EP 0 205 002, EP 0 268 185 und EP 0 068 343 Kartuschen und Kartuschenhalterungen offenbart.

5

Im folgenden ist beispielhaft die Ummantelung eines monolithischen Sorbens mit PEEK beschrieben: Ein monolithischer Formkörper (100 x 7,2 mm) wird in ein Rohr aus PEEK (Innendurchmesser 7,4 mm, Wandstärke 1,5 mm) eingebracht. Kunststoffrohr und Formkörper werden auf ca. 320 - 330 °C erwärmt und das Kunststoffrohr in einer Andrückvorrichtung dicht auf den Formkörper angedrückt. Nach dem Erkalten wird der ummantelte Formkörper auf 83 mm abgelängt.

10

Ein derartig ummanteltes monolithisches Sorbens kann direkt in eine Kartuschenhalterung, wie sie beispielhaft in Abbildung 1 dargestellt ist, eingebracht werden. Dargestellt ist die obere Hälfte der Vorrichtung. Das monolithische Sorbens (1) ist von dem Kunststoffmantel (7) flüssigkeitsdicht umhüllt. Der Frontfläche des monolithischen Sorbens liegt eine Verteilerfritte (11) auf, auf die Stirnseite des Kunststoffmantels stützt sich eine ringförmige Dichtung (12). Verteilerfritte (11) und Dichtung (12) liegen in einer Ausfräsung der Endstückes (9), das eine Anschlußvorrichtung (10) für Elutionsmittelzu- und -ablauf aufweist. Das ummantelte monolithische Sorbens steckt in einem Rohr (8), beispielsweise aus Aluminium oder Edelstahl, das mit einer Schraubkappe (13) abgeschlossen ist. Die Schraubkappe (13) drückt das Endstück (9) gegen Kunststoffmantel (7) und monolithisches Sorbens (1).

20

25

30

Die Umhüllung des monolithischen Sorbens kann auch in einer Weise geschehen, daß es beispielsweise grundsätzlich möglich ist, die Ummantelung wiederzuverwenden; eine derartige Konstruktion ist in Abbildung 2 dargestellt (dargestellt ohne Aufnahmevorrichtung für Elutionsmittelzu- und -ablauf):

Eine selbst-dichtende Halterung, in die das monolithische Sorbens (1) eingeführt werden kann, besteht beispielsweise aus folgenden Bestandteilen:

- (2) ein an beiden Enden konisches Rohr aus duktilem oder elastischem inertem Material, z.B. Teflon oder Silikongummi;
 - (3) zwei kegelstumpfförmige Abschlußstücke mit einer Durchführung für Elutionsmittelzu- und -abführung aus duktilem oder elastischem inertem Material, z.B. Teflon oder Silikongummi;
 - (4) ein Edelstahlrohr;
 - (5) zwei Gewindeverbindungen zwischen Edelstahlrohr (4) und Endkappen (6);
funktionsgleich beispielsweise eine äußere Halterung oder Schraubstangen zwischen Endkappen/Endplatten;
 - (6) zwei Endkappen aus Edelstahl.
- Anstelle der Verwendung von Edelstahl können andere für chromatographische Säulen gebräuchliche Materialien verwendet werden.

Diese Halterung erlaubt es, das monolithische Sorbens (1) in das Rohr (2) einzuschieben. Zur Entsorgung kann das monolithische Sorbens nach Gebrauch aus dem Rohr herausgeschoben werden. Das Rohr (2) und die Abschlußstücke (3) können, ebenso wie die Edelstahlteile (4) und (6) wiederverwendet werden.

Die Innenlänge des Rohres (2) ist länger als das Keramikstäbchen (1).
Wenn die Endkappen (6) auf das Rohr (4) aufgeschraubt werden, pressen
die Abschlußstücke (3) das Rohr (2) zusammen. Wegen der Duktilität der
Materialien wird das monolithische Sorbens dichtend in der Vorrichtung
gehalten.

5

Eine ähnliche Vorrichtung ist in Abbildung 3 dargestellt (eine Hälfte): Das
monolithische Sorbens (1) steckt in einem Schlauch (15) aus einem
lösungsmittelfestem weichen Material, der seinerseits in einem Rohr (14)
steckt. Auf den Stirnflächen des monolithischen Sorbens liegt jeweils eine
Verteilerfritte (11) und ein Anschlußstück (17) mit Anschlußschlauch (18)
auf. Das Anschlußstück (17) wird von dem Kopfstück (16) gehalten.
Druckstempel (19) drücken den Schlauch (15) fest an das monolithische
Sorbens.

10

15

20

25

30

Anspruch

- 5 1. Ummanteltes monolithisches Sorbens auf der Grundlage von porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist, dadurch gekennzeichnet, daß die Mantelfläche des genannten monolithischen Sorbens flüssigkeitsdicht mit einem druckfesten Kunststoffmantel umschlossen ist.
- 10 2. Verwendung eines monolithischen Sorbens nach Anspruch 1 in einer chromatographischen Säule oder einer chromatographischen Kartusche.
- 15 3. Verwendung eines monolithischen Sorbens nach Anspruch 1 bei der chromatographischen Trennung mindestens zweier Substanzen.

20

25

30

Zusammenfassung

Ummantelte monolithische Sorbentien auf der Grundlage von porösen Formkörpern werden offenbart, wobei die Mantelfläche des genannten monolithischen Sorbens flüssigkeitsdicht mit einem druckfesten Mantel, beispielsweise aus Kunststoff, umschlossen ist. Die erfindungsgemäße Ummantelung ist insbesondere bei porösen Formkörpern, die untereinander verbundene Makroporen sowie Mesoporen in den Wänden der Makroporen aufweisen, wobei der Durchmesser der Makroporen einen Medianwert größer als 0,1 µm aufweist, und wobei der Durchmesser der Mesoporen einen Medianwert von 2 und 100 nm aufweist.

Weiterhin werden die Verwendung eines erfindungsgemäßen monolithischen Sorbens in einer chromatographischen Säule oder einer chromatographischen Kartusche, sowie die Verwendung eines erfindungsgemäßen monolithischen Sorbens bei der chromatographischen Trennung mindestens zweier Substanzen offenbart.

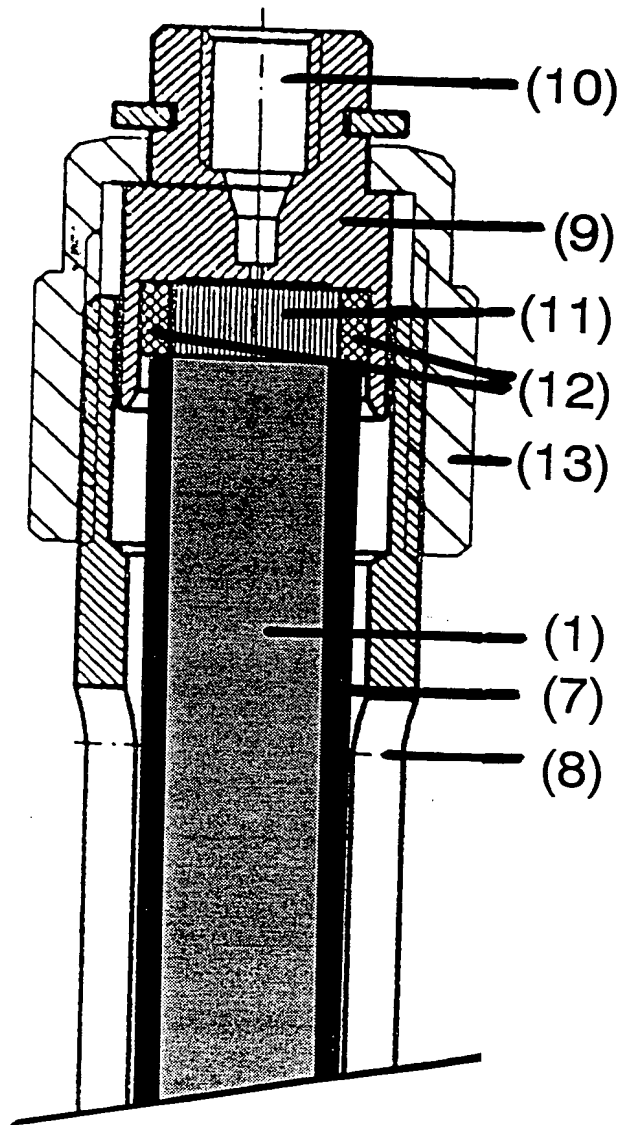
20

25

30

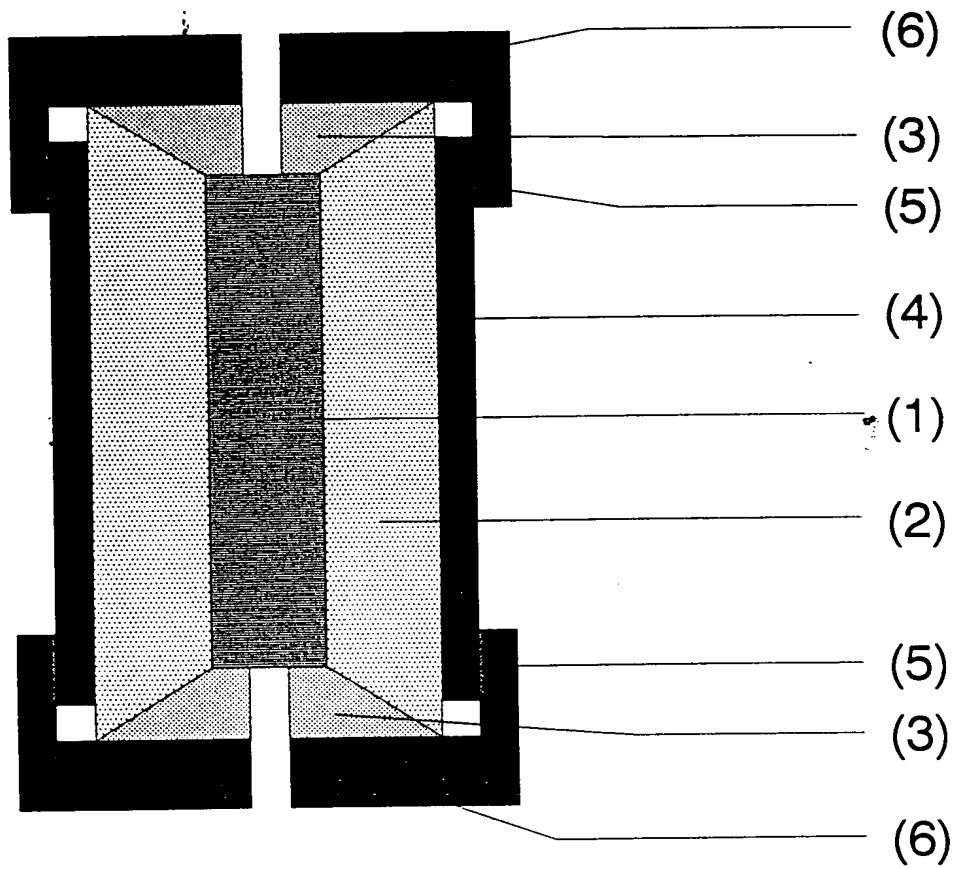
1/3

Fig. 1



2/3

Fig. 2



3/3

Fig. 3

